

哺乳动物细胞染色体畸变试验的标准化与背景数据采集

文海若[#], 王亚楠[#], 宋捷, 王欣, 耿兴超, 王雪, 李波^{*}, 胡燕平^{*}

中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176

摘要: 染色体畸变试验作为保健食品、化妆品、药品、医疗器械上市前常规开展的毒理学试验项目, 是检测化学物质对染色体数量和结构影响的基本方法。确立标准化试验方法并积累一定的背景数据, 是试验系统和数据真实可靠性的有力保障, 可为科研人员和审评专家的数据分析提供有力依据。首先就影响染色体畸变试验结果的因素进行简要综述, 继而通过回顾国内外 2012—2017 年期间发表的 47 篇有关哺乳动物细胞染色体畸变试验的研究来讨论如何规范化试验条件, 并以国家药物安全评价监测中心 2002—2017 年汇总的背景数据为例阐释建立历史背景数据的要点。总之, 严格参考 OECD 指导原则开展规范化的染色体畸变试验并通过长期积累建立一套对照受试物的背景数据是临床前遗传毒性研究的关键环节, 有利于更好地对药物等受试物的潜在致染色体损伤作用进行合理而有效的判断。

关键词: 染色体畸变试验; 标准化; 背景数据; 遗传毒性; 结构畸变类型

中图分类号: R994 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)05-0727-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.05.003

Standardization and Historical Data Collection of Mammalian Cell Chromosome Aberration Test

WEN Hairuo, WANG Yanan, SONG Jie, WANG Xin, GENG Xingchao, WANG Xue, LI Bo, HU Yanping

National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of Beijing for Nonclinical Safety Evaluation Research of Drugs, Beijing 100176, China

Abstract: Chromosome aberration test, as a routine toxicology test before the listing of health food, cosmetics, medicine and medical device, is the essential methods for detecting the effects of chemicals to the structure and quantity of chromosomes. The establishment of standardized test methods and accumulation of certain historical data are powerful guarantees for the authenticity and reliability of the test system and data, and provide a strong basis for data analysis by researchers and reviewers. In this paper, factors might affect the chromosome aberration test results are briefly reviewed. Subsequently, 47 papers on in mammalian cell chromosome aberration test at home and abroad published from 2012 to 2017 were analyzed for discussing the standardizing of test conditions, and the historical data of our center between 2002 to 2017 as an example were demonstrated to elucidate the key points in producing the historical data. In conclusion, conducting standardized chromosome aberration test strictly following the OECD guidelines and establishing a series of background data for control articles are the key in the pre-clinical genotoxicity study, and shall be beneficial in making reasonable and effective judgements on the potential chromosome damage risk of drugs and other test articles.

Key words: chromosome aberration test; standardization; historical data; genotoxicity; type of structural aberration

每种生物的染色体结构与数目相对保持恒定。但在一定自然条件或人工因素影响下, 染色体的结构和数目可发生变化。其中, 染色体结构改变是指

DNA 双链断裂后发生的可见的结构性变化, 包括染色体断裂、倒位、易位和重复等; 染色体数目异常则可能与一对或多对同源染色体不分离或多次内复

收稿日期: 2018-02-27

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2015ZX09501004-002); 《中国药典》药品标准提高

第一作者: 文海若, 女, 博士, 副研究员, 主要从事药物遗传毒性评价。Tel: (010) 67876252 E-mail: wenhairuo@nifdc.org.cn

王亚楠, 女, 硕士研究生, 从事药物遗传毒性评价研究。Tel: 15001028786 E-mail: wangyanan_ytu@126.com

[#]为共同第一作者。

*通信作者: 胡燕平, 女, 副主任药师, 研究方向为遗传毒性评价。Tel: (010) 67872233-8223 E-mail: huer64@126.com

李波, 男, 研究员, 研究方向为药物临床前安全性评价。Tel: (010) 53851706 E-mail: libo@nifdc.org.cn

制的发生有关,包括整倍性改变和非整倍性改变^[1]。产生染色体结构改变的理论包括断裂-重接假说和互换假说,而染色体非整倍体形成的原因主要可以归结为染色体不分离^[2]。

染色体畸变发生于体细胞时可能导致癌变,发生于生殖细胞时则可导致子代畸形^[1]。染色体畸变试验(chromosome aberration test)直接对细胞内染色体结构和数目的细微变化进行观察,是最基本而重要的遗传毒性评价方法之一。它既是保健食品、化妆品、药品、医疗器械上市前常规开展的毒理学试验项目^[3-5],在环境诱变剂监测领域,如水质土壤环境对农作物的影响、辐射对人体的影响、PM2.5的环境暴露毒性等研究中也有广泛应用^[6]。

确立标准化试验方法并积累一定的背景数据,是试验系统和数据真实可靠性的有力保障,可为科研人员和审评专家的数据分析提供有力依据。本文首先就影响试验结果的因素进行简要综述,继而通过回顾国内外2012—2017年期间发表的47篇有关哺乳动物细胞染色体畸变试验的研究来讨论如何规范化试验条件,并以我中心2002—2017年间汇总的背景数据为例阐释历史背景数据的建立的关注点。

1 影响体外染色体畸变试验结果的因素

1.1 细胞选择

染色体畸变试验不受核型限制,所有体外培养的哺乳动物细胞均可用于染色体核型分析。从简化试验模型的角度考虑,易于培养、倍增周期较短、核型易于分辨、染色体较少且大的细胞系,如中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)和中国仓鼠卵巢细胞(CHO),成为指导原则和各家实验室的首选^[7]。人类外周血淋巴细胞也是常用的染色体畸变分析试验系统,在检测环境诱变剂,尤其是检测辐射和职业暴露的潜在染色体损伤领域优势突出。

据统计,在2012—2017年47篇文献中^[8-54]体外染色体畸变试验选用的细胞以CHL细胞为主(共41篇,占87%),3篇文章中使用了CHO细胞,2篇文章中使用了人外周血淋巴细胞。另有个别文献报道了使用L5178Y、A549和HepG2细胞开展的染色体畸变试验,特殊细胞系的选择通常与受试物的暴露靶器官有关。

1.2 试验方法

细胞染毒时期通常在较为敏感的S期,染色体畸变的观察则在染毒后第一个分裂期进行。体外研究通常在有和无代谢活化的条件下开展,根据最新

的指导原则要求^[7]无代谢活化条件需延长至少24 h,如受试物对细胞增殖有明显影响,无代谢活化条件可延长至48 h。经数据分析^[8-54],在明确处理时间的40篇文献中6 h和24 h是最为常见的处理时间,分别在21和32篇文献中使用,其中有13项研究同时使用了短时(4或6 h)和连续处理(24或48 h)的条件;在15项以中药和纳米材料为主的研究中则仅设置24 h和/或48 h的处理条件。

大鼠肝S9包括肝微粒体和胞质酶,是体外遗传毒性试验常用试剂,用以模仿受试物体内代谢活化过程^[55]。然而S9本身有一定细胞毒性,因此在传统的需添加S9进行活化的实验系统中,给药处理时间通常不超过6 h。在分析的所有文献^[8-54]中45项研究使用了S9:大多数情况下(26篇文献)细胞与S9和受试物共同作用6 h,7项研究中使用S9处理时长为4 h,其他6项则超过12 h。

在染色体畸变试验中加入秋水仙素可通过抑制纺锤丝的形成而提高中期分裂相细胞的出现率。然而秋水仙素本身存在一定毒性,可导致细胞核固缩^[56]。经Gimesa染色后固缩的细胞核呈深紫色,难以观察其染色体细微结构,从而减少可用于观察分析的细胞。因此试验时应注意控制秋水仙素的作用时间和作用浓度。统计结果显示在47项文献^[8-54]中只有32项研究(约68%)注明秋水仙素的处理时间,其中大多数处理时间为4 h(20项),另有7项研究秋水仙素处理时间为2 h,4项研究为3 h;仅26项文献(约55%)中注明秋水仙素的处理浓度,14项研究中秋水仙素的处理浓度在0.2~0.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,6项研究使用浓度低于0.15 $\mu\text{g/mL}$,另外6项研究使用浓度则超过1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

在阳性剂的选择方面,丝裂霉素C(mitomycin C, MMC)和环磷酰胺(cyclophosphamide, CP)分别是不添加S9和添加S9条件下国内外研究人员的首选,分别占近5年文献报道^[8-54]的87%和80%。此外,个别研究也选择甲基磺酸甲酯(methyl methanesulfonate, MMS)、N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N-nitro-N-nitroso-guanidine, MNNG)、4-硝基喹啉-N-氧化物(4-nitroquinoline-N-oxide, 4-NQQ)和甲基磺酸乙酯(ethyl methylsulfonate, EMS)作为非S9代谢活化条件下的阳性对照;有8项和1项研究以苯并芘(azo[a]pyrene, B[a]P)和2,2-二羟甲基丁酸(2,2-bis(hydroxymethyl)butyric acid, DMBA)为添加S9条件下的阳性剂,此外有1

项检测荧光增白剂的研究仅在有 S9 代谢活化条件下开展^[12], 2 项针对纳米材料的研究未在 S9 代谢活化条件下开展^[14,45]。

1.3 细胞分析数量及分析指标

遗传毒性指导原则要求 GLP 研究中至每浓度组至少分析 200 个处于中期分裂相的细胞, 而经济合作与发展组织 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 最新指导原则要求^[8]至少分析 300 个处于中期分裂相的细胞。增加细胞分析数量有助于对数据进行科学的判断。

据统计, 在近 5 年发表^[8-54]的 42 项注明分析细胞数量的研究中, 有 23 项每个浓度组分析了 200 个细胞, 18 项分析了 100 个细胞。

在分析指标方面, 遗传毒性指导原则要求对染色单体和染色体断裂、缺失、交换和内复制等指标观察并记录^[7]。染色体裂隙通常宽度小于染色体臂宽度, 断裂端大多可在原位重新结合, 不一定会导致可遗传的细胞染色体损伤^[57]。故尽管在试验中记录裂隙情况, 但通常不列入结构畸变范畴。常见的结构畸变形式主要分为断裂和交换两大类 (表 1):

表 1 染色体和染色单体结构畸变类型

Table 1 Types of structural aberrations on chromosome and chromatid

染色体或染色单体			2 个子代细胞	1 或 2 个子代细	与分裂后期	
损伤	损伤类型		图例	均受影响	胞受影响	延迟有关
染色体损伤	缺失（断裂）	双臂中段缺失		是	/	否
		末端缺失		是	/	否
	交换	不完全易位		是	/	否
		双臂内交换，成环		是	/	是
		外交换，双着丝粒		是	/	是
染色单体损伤	缺失（断裂）	单臂中段缺失		/	/	否
		末端缺失		/	/	否
		等位染色体缺失		是	/	是
		不完全单臂内交换		/	是	是
		不完全双臂内交换		/	是	是
	交换	双臂内交换		/	是	是
		单着丝粒四射体		是	/	是
		双着丝粒四射体		是	是	是
		外交换		/	是	是

当前国内 GLP 实验室染色体结构畸变的观察指标并不统一。部分实验室从损伤机制上以裂隙、断裂、交换这些大体变化作为观察指标; 也有部分实验室根据不同的形态学特征进行详细分类如, 断片、交换、易位、环状染色体、微小体、染色体碎片化、双着丝点染色体、四射体、四射体等。其中断片、缺失、无着丝粒、碎片化是染色体或染色单体断裂的表现形式; 而成环、易位、双着丝粒染色体、四射体、四射体均为染色体或染色单体交换的

不同表现形式。这些表现形式的差异则可能与损伤发生时细胞所处的细胞周期以及损伤发生位置有关。如图 1 所示, 染色单体和染色体类似部位损伤后经成环或倒置后形成的结构并不相同^[57]。根据具体形态学特征进行分类有助于了解损伤过程并就其特点进行区分, 然而类别较多, 在观察统计时易于疏漏; 而以裂隙、断裂、交换大体改变作为观察指标更易于形成评价标准。不同的观察指标对结果评价也存在一定影响。以形态学指标为结构畸变分类

的紫杉醇染色体畸变试验为例^[29],其畸变类型包括(双)微小体、断裂、四射体、四射体、无着丝点成环、有着丝点成环等。上述指标以大体改变重新分类,无着丝点成环和有着丝点成环属于断裂和交换并存。如某细胞中存在有着丝点成环,以形态学标准判断该细胞为单畸变,但大体结构改变标准则认为存在多畸变类型。上述差异对整体细胞结构畸变率评价无影响,但在判断受试物诱导的染色体畸变损伤程度时,使用不同判断标准可得到不同结论。在本文回顾的文献中^[8-54],明确畸变分类方法文章有38篇,其大多数中文期刊文章结合两者作为分析指标,而英文期刊文章则多仅选择后者作为分析指标。上述文献中绝大多数研究使用单纯大体结构变化进行分类(12篇)或是在大体结构变化分类基础上纳入与断裂或交换有关形态学特征的分类方法(同时含大体结构变化分类法、与断裂和交换有关的形态学分类法的占15篇),单纯根据形态学特征进行分类的仅占2篇(表2)。可见,大体结构变化分类方法是最基础也是最重要的分类方法,在建立实验室历史背景数据库时有重要意义。而国内实验室在观察指标和结构畸变的分类方法上尚未形成统一标准,对实验室间背景数据收集和数据库互认存在一定影响。

此外,当阅片时观察到多倍体细胞明显增加,应注意所观察的细胞基数。很多二倍体细胞可能因染色体分散效果不佳、相互覆盖或其他制片原因未列入计数范畴,无形中放大了多倍体细胞率。为获

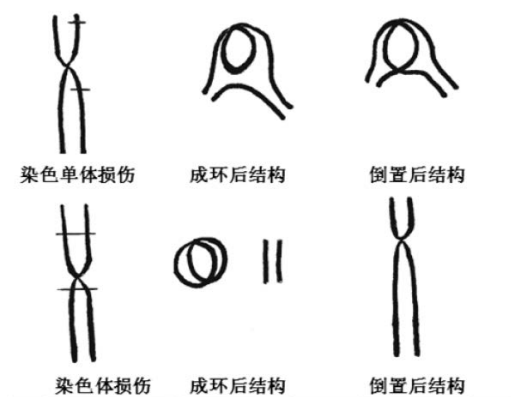


图1 染色单体和染色体类似部位损伤可形成不同异常染色体结构畸变形式

Fig. 1 Damages on similar domains of chromatid and chromosome could generate different chromosome structural aberration forms

表2 2012—2017年发表的体外染色体畸变试验中结构畸变分类方法统计

Table 2 Statistical data of published structural aberration classification methods *in vitro* chromosome aberration test between 2012 to 2017

结构畸变分类标准	文章数
根据大体结构变化分类(裂隙、断裂、交换)	12
大体结构变化分类法+与断裂和交换有关的形态学分类法	15
大体结构变化分类法+与断裂有关的形态学变化分类法	2
大体结构变化分类法+与交换有关的形态学变化分类法	7
根据形态学特征分类	2

得较为真实的多倍体细胞出现率,Danford 建议在分析多倍体细胞出现率时应计数500个有丝分裂细胞^[57]。非整倍体细胞数增加可能与细胞直接毒性(非遗传毒性)因素有关,如需判断受试物是否有诱导非整倍体的作用可开展染色着丝粒的微核试验证实。

1.4 结果统计与判断

数据分析分为定量和定性两方面。47篇文献中^[8-54]明确定量分析方法的研究有31项,其中24篇使用了卡方检验,6篇使用方差检验,2篇使用Student's *t* 检验对数据进行统计学分析。染色体畸变试验的统计分析对象为各组计数细胞中存在畸变细胞的出现率,因此建议使用卡方检验等计数学统计方法^[7],方差检验和Student's *t* 检验等计量学统计分析方法不适用。其中17篇^[8-54]进行定性分析的文献中共有三个分析标准,分别为标准一:细胞畸变率 $\leq 5\%$ 为阴性(-), $>5\% \sim 10\%$ 为可疑($\pm$), $>10\% \sim 20\%$ 为阳性(+), $>20\% \sim 50\%$ 为阳性(++), $>50\%$ 为阳性(+++);标准二:细胞畸变率 $< 5\%$ 为阴性(-), $\geq 5\%$ 为可疑($\pm$), $\geq 10\%$ 为阳性(+);标准三:细胞畸变率 $< 5\%$ 为阴性(-), $> 5\%$ 为阳性(+), $> 20\%$ 为阳性(++)。上述3个标准均以畸变率超过10%为阳性,其中标准一的应用最为普遍(12/17),标准二次之(4/17)。此外,共有6篇文献同时使用了卡方检验和定性方法对结果进行判断。

2 背景数据采集

日积月累准确的试验背景数据是试验数据真实可靠性的有力保障,对于GLP实验室来说尤其重要。OECD人用药品注册技术要求国际协调会议

(ICH) 的 S2 (R1) 建议, 非代谢活化条件下开展的染色体畸变试验不必每次均设置阳性对照组, 这要求务必建立可靠的阳性背景值为研究基础。适宜细胞系的选择、标准化的试验条件和操作流程、合理的阳性剂浓度和给药方式, 以及明确的镜检分析标准是对实验室背景数据准确分类汇总的关键。建立一套实验室背景数据首先应根据相关指导原则和实验室的具体情况制定相应的标准操作规程。研究应使用相同细胞开展, 并定期细胞核型、倍增时间和是否有支原体污染等进行鉴定。除特殊化合物外, 应尽量选择相同的阴(阳)性对照试剂, 且阳性对照和秋水仙素的给药时间和处理浓度尽量保持一致, 就不同试验条件和所用试剂的结果进行分类汇总。参与染色体畸变试验的人员务必进行系统培训, 以保证每次制片、染色和镜检计数的标准的一致性。染色体形态需要在高倍镜下观察, 故制片质量优劣对结果判断可产生严重影响。如大量染色体相互覆盖或染色体分散效果不好时, 试验人员可能无法清晰地观察到具体的结构变化, 难以对如裂隙与断裂或相互重叠的染色体与四射体这些细微结构进行区分, 从而影响畸变率的判断^[57]。此外, 研究负责人

需对每次的研究数据进行认真复核, 并确认每次获得的阴性对照和阳性对照的结果应在文献报道的范围之内^[7]。

本单位根据我国及 ICH 等国际组织推荐的哺乳动物细胞染色体畸变试验方法^[4-5, 7], 对 2002—2017 年国家药物安全评价监测中心开展的 CHL 细胞染色体畸变试验(±S9 条件下)历史背景数据进行汇总, 详见表 3。本中心采用的结构畸变分类方法为大体结构变化分类法, 观察指标包括染色单体裂隙、断裂、交换; 染色体裂隙、断裂、交换; 断片、染色单体臂细长、未成熟染色体凝缩等(染色单体裂隙和染色体裂隙不计入结构畸变中); 数目畸变观察项目对多倍体和内复制等分别记录。秋水仙素添加时间为细胞收获前 2~4 h, 处理浓度为 0.2~0.4 μg/mL。阳性剂 CP 终浓度为 20 μg/mL, MMC 终浓度为 0.1 和 0.05 μg/mL, 处理时间分别为 6 h 和 24 h。每浓度组分析 200 个处于中期分裂相的细胞。所有数据均来自 5~10 次独立研究, 阴性对照背景值在文献报道的自发畸变率范围之内^[8-54]。当阴性和阳性对照背景值偏离背景数据时, 认为该数据不可靠, 应查找原因并重复试验。

表 3 2002—2017 年国家药物安全评价监测中心哺乳动物细胞染色体畸变试验历史背景数据($\bar{x} \pm s$, $n=10 \sim 14$)

Table 3 Historical values of control groups in Mammalian Cell Chromosome Aberration Test in National Center for Safety Evaluation of Drugs ($\bar{x} \pm s$, $n=10-14$)

条件	对照试剂	结构畸变率/%	数目畸变率/%
+S9 (6 h)	ddH ₂ O	0.7±0.3	1.2±1.0
	DMSO (0.5%)	2.8±3.8	1.4±1.0
	CPA(20 μg/mL)	53.4±23.0	0.3±0.8
-S9 (6 h)	ddH ₂ O	0.8±1.1	0.3±0.4
	DMSO (0.5%)	2.0±0.6	2.0±2.48
	MMC(0.1 μg/mL)	48.5±15.8	0.6±0.9
-S9 (24 h)	ddH ₂ O	0.7±0.3	1.0±1.0
	DMSO (0.5%)	1.9±1.7	0.8±1.0
	MMC(0.05 μg/mL)	59.3±10.1	0.8±2.1

3 小结

综上所述, 体外染色体畸变试验是评价与人体接触的化合物或环境因素潜在致癌作用和致畸作用的重要遗传毒性评价方法。该方法就细胞染色体具体结构和数目变化进行观察, 在了解受试物对染色体的作用机制和特点方面具有不可替代的意义。本文回顾了近 5 年国内外发表的染色体畸变试验中所采用的试验方法。在受试物处理时间、秋水仙素和

阳性剂的使用浓度、数据定量分析方法存在较大差异。这些差异性影响了我们对化合物真实毒性强弱的判断, 降低了研究成果的可利用价值。实验室间染色体畸变观察指标和结构畸变的分类方法统一标准的形成, 也将有助于审评人员对试验结果作出准确的判断。严格参考 OECD 指导原则开展规范化的染色体畸变试验并通过长期积累建立一套对照受试物的背景数据是临床前遗传毒性研究的关键环节,

有利于更好地对药物等受试物的潜在致染色体损伤作用进行合理而有效的判断。

参考文献

- [1] Clare G. The *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test [A]. Parry J, Parry E. Genetic Toxicology. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols) [C]. New York: Springer, 2012.
- [2] 印木泉. 遗传毒理学 [M]. 科学出版社, 2002.
- [3] 国家食品药品监督管理总局. 国家食品药品监督管理总局关于发布化妆品安全技术规范(2015年版)的公告(2015年第268号) [EB/OL]. (2015-12-23) [2018-2-24].
<http://www.sda.gov.cn/WS01/CL1870/140161.html>.
- [4] Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2(R1) (Step 4 version) [S]. 2016.
- [5] 药物遗传毒性研究技术指导原则 [S]. 2007.
- [6] 文海若, 周文珊. 大气 PM_{2.5} 毒性及致癌性作用机制的研究进展 [J]. 公共卫生与预防医学, 2014, 25(6): 70-73.
- [7] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals TG 473: *In vitro* mammalian chromosomal aberration test [S]. 2014.
- [8] 高梅, 曹冲, 朱春花, 等. 人参皂苷 Rb₂ 致中国仓鼠肺细胞染色体畸变的作用 [J]. 癌变 畸变 突变, 2012, 24(4): 298-301.
- [9] 高梅, 曹冲, 王功霞, 等. 文蛤肉水解液的致突变性 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(5): 521-525.
- [10] 谢广云, 王全凯, 王安娜, 等. 碲化镉量子点对 CHL 细胞染色体畸变作用研究 [J]. 卫生研究, 2013, 42(3): 415-418.
- [11] 曹冲, 高梅, 杨麟珂, 等. 人参皂苷 Re 致中国仓鼠肺细胞染色体畸变作用 [J]. 医学动物防制, 2013(7): 712-714.
- [12] 蒋伟, 陈相, 缪文彬, 等. 荧光增白剂致中华仓鼠肺细胞染色体畸变研究 [J]. 职业卫生与应急救援, 2013, 31(2): 71-73.
- [13] 陈秀娟, 刘香梅, 庞增雄, 等. 枇杷叶水提物的急性毒性和遗传毒性 [J]. 癌变 畸变 突变, 2016, 28(5): 403-406.
- [14] 于永生, 施畅, 徐丽明, 等. 纳米银对中国仓鼠肺成纤维细胞的细胞毒性和遗传毒性 [J]. 癌变 畸变 突变, 2014, 26(6): 428-433.
- [15] 韩丽, 刘平, 胡海, 等. 艾烟中可吸入颗粒诱发染色体畸变效应的实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(1): 34-36.
- [16] 刘丹卓, 赵新广, 尤昭玲, 等. 妇科千金胶囊对 CHL 细胞株染色体畸变影响的研究 [J]. 江西中医药, 2014(7): 38-40.
- [17] 高梅, 曹冲, 朱春花, 等. 人参皂苷 Rd 对中国仓鼠肺细胞染色体畸变作用 [J]. 中国药物警戒, 2013, 10(3): 133-136.
- [18] 夏祺悦, 刘燕萍, 杨润芳, 等. 吴茱萸及其主要成分的遗传毒性研究 [J]. 世界中医药, 2014, 9(02): 145-150+154.
- [19] 张凤兰, 黄湘鹭, 曹进, 等. 熊果苷的遗传毒性及人体表皮细菌对熊果苷代谢转化作用研究 [J]. 中国药事, 2014, 28(4): 375-380.
- [20] 苏军, 齐霞, 张海艇. 右旋雷贝拉唑钠对 CHL 细胞染色体畸变的影响实验研究 [J]. 中国药事, 2015(8): 865-869.
- [21] 高梅, 朱春花, 曲保恩. 左旋泮托拉唑钠对中国仓鼠肺细胞染色体畸变作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013(3): 291.
- [22] 秦秀军, 刘冲, 岳娟, 等. 维吾尔药刺山柑果风湿止痛贴的遗传毒性研究 [J]. 毒理学杂志, 2017(4): 317-320.
- [23] 王佳颖, 花文婷, 余丹. 云南红豆杉中紫杉烷类二萜成分化合物的遗传毒性研究 [J]. 中国野生植物资源, 2016, 35(2): 27-33.
- [24] 黄晓洁, 邢成锋, 魏刚, 等. 神清滴丸的遗传毒性研究 [J]. 中成药, 2013, 35(10): 2082-2088.
- [25] 吴友苹, 张升. 桑叶水提液的急性毒性和遗传毒性研究 [J]. 中成药, 2015, 37(4): 876-879.
- [26] 董小艳, 冯秋珍. 四物汤抗三氧化二砷诱变作用的实验研究 [J]. 湖北中医杂志, 2013, 35(11): 20-22.
- [27] 谷芳芳, 周夏慧, 朱晓静, 等. 鲜铁皮石斛遗传毒性实验研究 [J]. 中国新药杂志, 2016(21): 2506-2509.
- [28] 陈阳述, 李茹冰, 李健, 等. 盐酸椒苯酮胺致突变实验 [J]. 中国老年学, 2013, 33(19): 4747-4749.
- [29] 程东, 韩晓英, 张天亮, 等. 紫杉醇遗传毒性研究 [J]. 毒理学杂志, 2014(3): 231-233.
- [30] 路景涛, 魏伟. 木瓜苷的遗传毒性研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(8): 922-925.
- [31] 田逸君, 郑怡文, 朱玉平, 等. 雷公藤内酯醇的遗传毒性评价 [J]. 药学实践杂志, 2016, 34(3): 215-218.
- [32] 高梅, 曹冲, 汤连升, 等. 毛蚶提取物的遗传毒性试验研究 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 357-361.
- [33] 谢贵元, 关岚, 刘新民, 等. 3%苦参碱水剂致突变作用研究 [J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2015(1): 51-54.
- [34] 包捷, 魏金锋, 王晓良, 等. 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐的急性毒性和致突变作用研究 [J]. 癌变 畸变 突变, 2015, 27(2): 137-141.
- [35] 曹冲, 王功霞, 庄婕, 等. 牡蛎水提液的遗传毒性

- 研究 [J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 116-120.
- [36] 程 鹏, 高 萍, 程 琳, 等. 含银离子烧伤敷料的遗传毒性研究 [J]. 天津药学, 2014, 26(2): 1-3.
- [37] 侯 艳, 刘 晶, 乔红群. 注射用三七素的遗传毒性试验研究 [J]. 临床合理用药杂志, 2017(32): 94-95.
- [38] 刘 晶, 杨欢欢, 蔡 鸣, 等. 注射用伏立康唑前药的遗传及生殖毒性研究 [J]. 华西药学杂志, 2016, 31(4): 378-381.
- [39] 由振强, 宣尧仙, 蒋春红, 等. 喜炎平注射液的遗传毒性实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2013, 29(1): 48-50.
- [40] Hobbs C A, Saigo K, Koyanagi M, et al. Magnesium stearate, a widely-used food additive, exhibits a lack of *in vitro* and *in vivo* genotoxic potential [J]. Toxicol Rep, 2017, 4: 554-559.
- [41] Ono Y, Tomimori N, Hori H, et al. Mechanisms of chromosomal aberrations induced by sesamin metabolites in Chinese hamster lung cells [J]. Mutat Res, 2017, 822: 19-26.
- [42] Takeiri A, Tanaka K, Harada A, et al. Giemsa-stained pseudo-micronuclei in rat skin treated with vitamin D3, analog, pefcalcitol [J]. Genes Environ, 2017, 39(1): 17.
- [43] Xia Q, Li H, Liu Y, et al. The effect of particle size on the genotoxicity of gold nanoparticles [J]. J Biomed Mater Res A, 2017, 105(3): 710-719.
- [44] Nagatomo A, Oguri M, Nishida N, et al. Evaluation of genotoxicity and subchronic toxicity of standardized rose hip extract [J]. Hum Exp Toxicol, 2017(1): 960327117730881.
- [45] Sasaki T, Asakura M, Ishioka C, et al. *In vitro* chromosomal aberrations induced by various shapes of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) [J]. J Occup Health, 2016, 29, 58(6): 622-631.
- [46] Takeshita K, Ogawa H I, Maeda T. Structural chromosome aberrations cause swelling of the nucleus [J]. Genes Environ, 2016, 38(1): 22.
- [47] Das J, Samadder A, Mondal J, et al. Nano-encapsulated chlorophyllin significantly delays progression of lung cancer both in *in vitro* and *in vivo* models through activation of mitochondrial signaling cascades and drug-DNA interaction [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2016, 46: 147-157.
- [48] Jeong M K, Cho C K, Yoo H S. General and genetic toxicology of enzyme-treated ginseng extract: toxicology of ginseng Rh2+ [J]. J Pharmacopuncture, 2016, 19(3): 213-224.
- [49] Yamamura E, Muto S, Yamada K, et al. Chromosomal damage and micronucleus induction by MP-124, a novel poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitor: Evidence for a non-DNA-reactive mode of action [J]. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 2015(782): 1-8.
- [50] Yamakage K, Sui H, Ohta R, et al. Genotoxic potential and *in vitro* tumour-promoting potential of 2-dodecylcyclobutanone and 2-tetradecylcyclobutanone, two radiolytic products of fatty acids [J]. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 2014(770): 95-104.
- [51] Lee M Y, Seo C S, Kim J Y, et al. Genotoxicity evaluation of Guibi-Tang extract using an *in vitro* bacterial reverse mutation assay, chromosome aberration assay, and *in vivo* micronucleus test [J]. BMC Complement Altern Med, 2014(14): 215.
- [52] Zhu Q, Li T, Wei X, et al. *In silico* and *in vitro* genotoxicity evaluation of descarboxyl levofloxacin, an impurity in levofloxacin [J]. Drug Chem Toxicol, 2014, 37(3): 311-315.
- [53] Ishida S, Sarada M, Seki H, et al. Genotoxicity and subchronic oral toxicity of *L*-ornithine monohydrochloride [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2013, 67(3): 360-371.
- [54] Nakano M, Suzuki H, Imamura T, et al. Genotoxicity of pyrroloquinoline quinone (PQQ) disodium salt (BioPQQ?) [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2013, 67(2): 189-97.
- [55] Bradshaw P R, Wilson I D, Gill R U, et al. Metabolic hydrolysis of aromatic amides in selected rat, minipig, and human *in vitro* systems [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 2405.
- [56] Ranney D F. Suppression of stimulating cell activity by microtubule-disrupting alkaloids [J]. J Supramol Struct, 1976, 5(3): 335-342.
- [57] Danford N. The interpretation and analysis of cytogenetic data [J]. Meth Mol Biol, 2012(817): 93-120. doi:10.1007/978-1-61779-421-6_6